

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

***Referencia y consideraciones sobre el reporte de los resultados de la liberación experimental realizada en relación con los posibles riesgos al medio ambiente y la diversidad biológica y, adicionalmente, a la sanidad animal, vegetal o acuícola para el maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en Sonora durante el ciclo O-I 2009-2010”.***

Respecto al Artículo 18.- *“Conforme a lo dispuesto en los artículos 46 y 53 de la ley, los titulares del permiso de liberación experimental y liberación en programa piloto, deberán informar mediante un reporte a la secretaría que expidió el permiso los resultados de las liberaciones realizadas en el momento que se establezca en los permisos correspondientes. El reporte contendrá lo siguiente:*

- I. Lineamientos del protocolo propuesto para la liberación experimental o en programa piloto.*
- II. Cambios fenotípicos del OGM respecto a su adaptación al área de liberación.*
- III. Efectos de los genes de selección y posibles efectos sobre la biodiversidad.*
- IV. Caracterización bioquímica y metabólica de todos los productos del gen novedoso con relación a su actividad, productos de degradación o subproductos, productos secundarios y rutas metabólicas.*
- V. Cambios en la capacidad competitiva del OGM en comparación con la contraparte no modificada, incluyendo supervivencia y reproducción, producción de estructuras reproductoras, periodos de latencia y duración de cada ciclo de vida.*
- VI. Posibles efectos al medio ambiente y a la diversidad biológica por la liberación del OGM, incluyendo el protocolo utilizando para establecer estos posibles efectos.*
- VII. Efectos de las prácticas de uso y aprovechamiento.*
- VIII. En su caso, referencia bibliográfica.*

A continuación se presenta la información en base a los puntos del Artículo 18 del Reglamento de la Ley de Bioseguridad de OGMs.

#### **I. LINEAMIENTOS DE LOS PROTOCOLOS PARA LA LIBERACIÓN EXPERIMENTAL.**

Los protocolos que se implementaron durante las evaluaciones experimentales del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 fueron los siguientes:

Protocolo 1. Evaluación Agronómica, Fenotípica e Interacciones Ecológicas del Maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010.

Objetivo:

Generar los datos que permitan estimar si la modificación genética alteró las características agronómicas, fenotípicas y las interacciones ecológicas del maíz MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 en comparación con sus respectivos controles convencionales.

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

Protocolo 2. Efectividad biológica del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010.

Objetivo:

- Evaluar la respuesta de híbridos de maíz con germoplasma adaptado a las condiciones de campo en México que incorporan las características MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6 y su eficacia en el control de plagas de follaje y mazorca, y su eficacia para tolerar aplicaciones del herbicida agrícola Faena cuyo ingrediente activo es glifosato.

Protocolo 3. Evaluación de morfología y viabilidad del polen del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6

Objetivo:

- Evaluar la morfología y viabilidad del polen del maíz MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 comparado a su control convencional.

Protocolo 4. Verificación Cualitativa de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6

Objetivo:

- Confirmar la expresión de las proteínas que identifican específicamente al maíz MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6, incluyendo en el análisis a su control convencional, utilizando tiras reactivas de flujo lateral.

Protocolo 5. Evaluación de la dispersión de polen desde los predios experimentales con maíz GM establecidos en Sonora, ciclo O-I 2009

Objetivo:

- Analizar la dispersión del polen de las plantas de maíz en el lote experimental de acuerdo a los vientos de la zona

**Ver Anexo 1.**

## **II. CAMBIOS FENOTÍPICOS DEL OGM RESPECTO A SU ADAPTACIÓN AL ÁREA DE LIBERACIÓN.**

Las evaluaciones de campo se establecieron en el ciclo Otoño-Invierno 2009-2010 en las localidades Predio 2 Cajeme (Lenin Obregón), Predio 3 San Ignacio Río Muerto (Manuel Félix) y Predio 5 Bácum (Manuel García), en el Estado de Sonora. Estos sitios proporcionaron un rango de condiciones ambientales y agronómicas representativas de las regiones productoras de maíz en el Estado de Sonora.

En el estudio 1. "Evaluación Agronómica, Fenotípica e Interacciones Ecológicas del Maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010", se generaron los datos que permitieron estimar si la modificación genética alteró las características agronómicas, fenotípicas y las interacciones ecológicas del maíz MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 en comparación con sus respectivos controles convencionales.

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

Las variables analizadas fueron etapas de desarrollo, emergencia, vigor de plántulas, días a 50% de floración masculina, días a 50% de floración femenina, stay green (prevalencia de actividad fotosintética), altura de mazorca, altura de planta, número de mazorcas caídas, número de plantas con acame de tallo, número de plantas con acame de raíz, número de plantas cosechadas, humedad de grano y rendimiento.

Los resultados de estas evaluaciones indican:

i) MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional se ubicaron en el mismo rango de etapas de desarrollo en 37 de las 38 observaciones realizadas en las tres localidades. Durante la onceava observación (26 de abril de 2010) en la localidad MF, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se encontraba en la etapa de desarrollo R4 mientras que el control se encontraba en R5. Sin embargo la etapa de desarrollo de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se ubicó dentro del rango de desarrollo observado para los híbridos comerciales de referencia (R4 – R5). Además, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional se ubicaron dentro de las mismas etapas de desarrollo durante todas las demás observaciones en la localidad.

ii) que cuando se presentaron diferencias en algunas de las características fenotípicas evaluadas, éstas no fueron indicativas de una respuesta de la planta asociada con la característica biotecnológica conferida y no son consideradas biológicamente significativas en relación a un incremento en el potencial de maleza o plaga de MON-ØØ6Ø3-6 comparado con el control de maíz convencional.

**Ver Anexo 2 “Equivalencia agronómica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010”**

En el estudio 2. “Efectividad biológica del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010” se evaluaron las características de tolerancia a glifosato y resistencia a insectos plaga.

En relación a la eficacia de la tolerancia a glifosato se comparó MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 asperjado con glifosato con MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 sin tratar con glifosato y además se realizó la comparación de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 asperjado con glifosato con MON-ØØ6Ø3-6 asperjado con glifosato para demostrar que tanto el material con el gen individual como el material con los genes apilados poseen tolerancia a glifosato comparable, analizando las siguientes características: clorosis a 10 y 30 DDAT (días después de aplicar el tratamiento con glifosato), deformación de la planta a 10 y 30 DDAT, altura de planta a 10 y 30 DDAT y achaparramiento de plantas a 10 y 30 DDAT. También se analizaron datos fenotípicos sobre el crecimiento y desarrollo del cultivo de maíz en relación a las siguientes características:

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

emergencia, vigor de plántulas, días a 50% de floración masculina, días a 50% de floración femenina, stay green, altura de mazorca, altura de planta, humedad de grano, llenado de grano, número de plantas cosechadas y rendimiento.

Los resultados de la evaluación confirman: i) la eficacia de la característica de tolerancia a glifosato en el MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6, y además, el crecimiento y desarrollo de la planta, incluyendo rendimiento, en cada tratamiento fue comparable a su contraparte convencional; y ii) la eficacia de la característica de tolerancia a glifosato en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 es comparable a MON-ØØ6Ø3-6.

En relación a la característica de resistencia frente a insectos lepidópteros plaga (*H. zea*, *D. saccharalis* y *S. frugiperda*) de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6, los resultados indican que cuando la presión de la plaga fue lo suficientemente fuerte como para ocasionar daño cuantificable, el MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presentó menor daño comparado con el control, tal como se observó para gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) y gusano elotero (*Helicoverpa zea*).

**Ver Anexo 3** “Efectividad biológica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010”

En el estudio 3. “Evaluación de morfología y viabilidad del polen del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6” se analizó la viabilidad y morfología del polen de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 comparado a su control convencional.

Los resultados de esta evaluación indican que la viabilidad y morfología del polen de MON-89Ø34-3 × ØØ6Ø3-6 es equivalente a la viabilidad y morfología del polen de su control convencional.

**Ver Anexo 6** “Evaluación de morfología y viabilidad del polen de maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 Y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo OI 2009-2010”

### **Conclusión:**

Los resultados de los estudios “Evaluación Agronómica, Fenotípica e Interacciones Ecológicas del Maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010”, “Efectividad biológica del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010” y “Evaluación de morfología y viabilidad del polen del maíz MON-89Ø34-3

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

× MON-ØØ6Ø3-6” confirman los resultados obtenidos en diferentes regiones donde se ha evaluado esta tecnología: la presencia de los transgenes no altera las características biológicas del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 a excepción de la tolerancia a glifosato y la resistencia a insectos blanco conferidas.

### **III. EFECTOS DE LOS GENES DE SELECCIÓN Y POSIBLES EFECTOS SOBRE LA BIODIVERSIDAD.**

El maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se obtuvo mediante técnicas de cruzamiento convencional, empleando como parentales materiales de maíz que contienen por separado cada uno de los eventos individuales (MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6).

El MON-89Ø34-3 fue obtenido empleando el plásmido de transformación PV-ZMIR245 que contiene dos T-DNAs separados. El primer T-DNA, designado T-DNA I, contiene los casetes de expresión *cry1A.105* y *cry2Ab2*. El segundo T-DNA, designado como T-DNA II, contiene el casete de expresión *nptII* (utilizado como marcador de selección en la etapa inicial del desarrollo del evento). Durante la transformación ambos T-DNAs fueron insertados en el genoma. Posteriormente se utilizó mejoramiento tradicional para obtener plantas que contienen únicamente los casetes de expresión *cry1A.105* y *cry2Ab2* (T-DNA I) y que no contienen el casete de expresión *nptII* (T-DNA II); de esta manera se obtuvo el maíz MON-89Ø34-3 que es resistente frente al ataque de insectos lepidópteros plaga y no presenta marcador de selección.

El maíz MON-ØØ6Ø3-6 se obtuvo por transformación mediante biobalística empleando un fragmento lineal del plásmido PV-ZMGT32. El genoma del maíz MON-ØØ6Ø3-6 integra dos construcciones para la expresión de la proteína CP4 EPSPS que confiere tolerancia a herbicidas agrícolas de la Familia Faena cuyo ingrediente activo es glifosato; en el desarrollo del maíz MON-ØØ6Ø3-6 no se utilizaron genes de tolerancia a antibiótico como genes de selección para los eventos de transformación; el propio gen *cp4 epsps* fue usado para identificar los eventos de transformación.

#### **Conclusión:**

No se espera un impacto negativo a la biodiversidad dado que MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6 no poseen marcadores de selección. En gen *cp4 epsps* fue transferido a MON-ØØ6Ø3-6 para conferir tolerancia a glifosato como parte del concepto de producto al tiempo que fue utilizado en la selección del evento. A continuación se revisa la carencia de impacto en la biodiversidad del gen *cp4 epsps*.

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

#### **IV. CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y METABÓLICA DE TODOS LOS PRODUCTOS DEL GEN NOVEDOSO CON RELACIÓN A SU ACTIVIDAD, PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN O SUBPRODUCTOS, PRODUCTOS SECUNDARIOS Y RUTAS METABÓLICAS.**

Todos los híbridos de maíz que son desarrollados, sin importar que sean biotecnológicos o convencionales, existen como variedades híbridas F1. Los híbridos F1 se desarrollan por las compañías o instituciones públicas mediante el cruzamiento de líneas parentales elite. Este mismo proceso es empleado para combinar características que se presentan como genes apilados en el híbrido MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6.

La expresión de las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 confieren a MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 la característica de resistencia a plagas de insectos lepidópteros. La expresión de la proteína CP4 EPSPS confiere a MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 la característica de tolerancia a herbicidas de la familia Faena.

Las proteínas Cry1A.105, Cry2Ab2 expresadas son proteínas insecticidas de *B. thuringiensis*. Por varias décadas se han realizado extensivos estudios sobre la seguridad y modo de acción de las proteínas Cry ya sea como mezcla (tal como se usan en los plaguicidas microbianos) o como proteínas individuales (tal como en algunos cultivos Bt).

La investigación del mecanismo de toxicidad de las proteínas Cry en los insectos blanco se ha realizado en forma típica evaluando la función de la actividad específica de las proteínas Cry en la naturaleza. El acuerdo general sobre el modo de acción de las proteínas Cry es de que las protoxinas Bt son solubilizadas en primer lugar en el intestino medio de los insectos susceptibles donde el pH es elevado (típicamente de 9 a 11 en las larvas de lepidópteros). La solubilización es seguida de la activación de las protoxinas por proteasas específicas del intestino medio que como producto generan toxinas activas. Las toxinas activadas se unen a receptores específicos de la membrana del intestino medio, se insertan en la membrana apical, formando poros que interfieren con la toma de nutrientes y eventualmente ocasionan la muerte (Gill et al., 1992; Schnepf et al., 1998; Zhuang and Gill, 2003). Estos receptores no se encuentran en células del tracto digestivo de mamíferos de tal manera que las proteínas Cry insecticidas no presentan efecto en humanos, otros mamíferos o insectos no susceptibles. Estas proteínas no presentan actividad enzimática y por lo tanto no afectan el metabolismo de la planta en manera alguna (OECD, 2007).

La proteína CP4 EPSPS, 5-enolpiruvil shikimato 3-fosfato sintasa, es una enzima derivada de *Agrobacterium* sp. cepa CP4. El mecanismo de tolerancia a glifosato en estas plantas GM se basa en el hecho de que el único blanco fisiológico del glifosato es la EPSPS endógena- una enzima clave involucrada en la ruta del ácido shikímico de la biosíntesis de aminoácidos aromáticos. La EPSPS participa en la ruta del corismato para formar aminoácidos aromáticos

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

que son utilizados en la síntesis proteica (Marzabadi et al. 1996). El glifosato inhibe efectivamente la EPSPS endógena de la planta, interrumpiendo la ruta de biosíntesis de aminoácidos aromáticos que lleva a la muerte de la planta. A diferencia de la EPSPS endógena, la CP4 EPSPS expresada en las plantas GM no es inactivada por el glifosato por lo cual confiere la tolerancia al glifosato (Nida et al. 1996). Todas las plantas, bacterias y hongos contienen enzimas EPSPS, pero ésta no se encuentra en humanos y otros mamíferos ya que los mamíferos no sintetizan aminoácidos aromáticos. Con base en la ubicuidad de EPSPS en microorganismos, hongos y plantas, y el mecanismo de acción de la CP4 EPSPS, no se espera que sea causa de daño para humanos o animales. El metabolismo del núcleo activo del herbicida es a menudo el principio del mecanismo involucrado en el desarrollo de resistencia. La carencia de metabolismo del glifosato se ha reportado para diferentes especies vegetales y de ello se han publicado revisiones (Duke, 1988).

Debido a que las actividades biológicas y modo de acción de estas proteínas Bt son completamente diferentes de la proteína CP4 EPSPS, no se anticipan interacciones entre estas proteínas Bt y la proteína CP4 EPSPS.

La expresión de las características biotecnológicas en el maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 no modifican su composición y mantiene su equivalencia substancial respecto de su contraparte convencional (ver Anexo 7).

Adicional a lo anterior, se tienen las autorizaciones por parte de la Secretaría de Salud para los eventos individuales (MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6) que integran el evento apilado y el evento apilado de maíz biotecnológico (MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6) que garantizan su inocuidad para consumo humano y animal. La información sobre las autorizaciones de salud para los eventos individuales fueron entregadas en la solicitud experimental y la autorización del evento apilado MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se anexa en este reporte (ver Anexo 8).

En el estudio 2. "Efectividad biológica del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010" se verificó la expresión de las características de tolerancia a glifosato y resistencia a insectos plaga; en el estudio 4 "Verificación Cualitativa de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6" se analizaron las proteínas que identifican específicamente a cada uno de los eventos que conforman el evento con genes apilados MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6; y en el estudio 1. "Evaluación Agronómica, Fenotípica e Interacciones Ecológicas del Maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010" se analizó si la modificación genética alteraba las características e interacciones ecológicas del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6.

Evento: **MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

### **Conclusión:**

Los resultados de los estudios 1, 2 y 4 confirman que la presencia y expresión de los transgenes no alteran las características biológicas del maíz MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 a excepción de la tolerancia a glifosato y la resistencia a insectos blanco conferidas.

Ver:

**Anexo 2** "Equivalencia agronómica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 x MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010"

**Anexo 3** "Efectividad biológica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 x MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010"

**Anexo 4** Confirmación de la expresión de proteínas conferidas a los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 x MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 Y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo OI 2009-2010

### **Bibliografía.**

Duke, S.O. 1988. Glyphosate. In: Herbicides-Chemistry, Degradation and Model of action vol. III. (Kearney, P.C., Kaufmann, D. D., Eds.) pp. 1-70. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, USA.

Gill, S.S.; E.A. Cowles, and P.V. Pietrantonio. 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. Annu. Rev. Entomol. 37:615-636.

Marzabadi, M.R., Gruys, K.J., Pansegrau, P.D., Walker, M.C., Yuen, H.K., Sikorski, J.A.: 1996. An EPSP synthase inhibitor joining shikimate 3-phosphate with glyphosate: synthesis and ligand binding studies.-Biochemistry 35: 4199-4210.

Nida, D.L., Patzer, S., Harvey, P., Stipanovic, R., Wood, R., and Fuchs, R.L. 1996. Glyphosate-Tolerant Cotton: The Composition of the Cottonseed Is Equivalent to That of Conventional Cottonseed. J. Agric. Food Chem., 44:1967 -1974.

OECD. (2007) Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis*-driven insect control proteins, No. 42. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology.

Schnepf, E., N. Crickmore, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum, J. Feitelson, D.R. Zeigler, and D.H. Dean. 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62:775-806.

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

Zhuang, M., and S.S. Gill. 2003. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* toxins. Pages 213-236 in Chemistry of Crop Protection, Progress and Prospects in Science and Regulation. Voss, G. and G. Ramos (eds), Wiley-VCH, Weinheim.

#### **V. CAMBIOS EN LA CAPACIDAD COMPETITIVA DEL OGM EN COMPARACIÓN CON LA CONTRAPARTE NO MODIFICADA, INCLUYENDO SUPERVIVENCIA Y REPRODUCCIÓN, PRODUCCIÓN DE ESTRUCTURAS REPRODUCTORAS, PERIODOS DE LATENCIA Y DURACIÓN DE CADA CICLO DE VIDA.**

Los datos comparativos de la caracterización vegetal del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y su control convencional generados se consideran en el contexto de su contribución para incrementar el potencial de plaga/maleza.

En nuestra solicitud para evaluación experimental en campo hemos proporcionado los estudios de la caracterización fenotípica de MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6, cuyos resultados demuestran que ninguno de los atributos reproductivos, capacidad de supervivencia o latencia se modifican en los maíces biotecnológicos como resultado de las características conferidas (Anexo 9).

Como resultados de la implementación del protocolo 1. "Evaluación Agronómica, Fenotípica e Interacciones Ecológicas del Maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010", tenemos:

- MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional se ubicaron en el mismo rango de etapas de desarrollo en 37 de las 38 observaciones realizadas en las tres localidades. Durante la onceava observación (26 de abril de 2010) en la localidad MF, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se encontraba en la etapa de desarrollo R4 mientras que el control se encontraba en R5. Sin embargo la etapa de desarrollo de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se ubicó dentro del rango de desarrollo observado para los híbridos comerciales de referencia (R4 – R5). Además, MON- 89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional se ubicaron dentro de las mismas etapas de desarrollo durante todas las demás observaciones en la localidad.
- En el análisis combinado de localidades no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional para días a 50% de floración masculina, días a 50% de floración femenina, stay green, altura de planta, número de mazorcas caídas, número de plantas con acame de tallo, número de plantas con acame de raíz, número de plantas cosechadas, humedad de grano y rendimiento. Se detectó diferencia estadísticamente significativa en el análisis combinado de localidades para vigor de plántulas, emergencia y altura de mazorca. Las

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

plántulas de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 fueron más vigorosas que el control convencional (6.50 vs. 5.08) y un poco mayores en altura de mazorca comparado con el control convencional (1.20 vs. 1.13 metros). Los valores de las medias para vigor de plántulas y altura de mazorca de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se ubicaron dentro del rango de referencia de los híbridos comerciales. MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presentó menos plantas establecidas que el control convencional (130.17 vs. 150.33 plantas por parcela) al inicio del experimento. El valor de la media para emergencia de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 fue ligeramente menor que el rango de referencia de híbridos comerciales (135.33 – 156.83 plantas/parcela), aunque no muy alejado de lo que se esperaría para maíz comercial. Además, la diferencia no contribuyó a una diferencia en el número de plantas cosechadas o en el rendimiento final, y es improbable que una diferencia en emergencia pueda contribuir a incrementar el potencial de maleza o plaga de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 comparado con el maíz convencional. Por esto, las diferencias detectadas en vigor de plántulas, emergencia y altura de la mazorca no se consideraron biológicamente significativas en término de un incremento en el potencial de maleza o plaga de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 comparado con el control de maíz convencional.

- No se observaron diferencias entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y su control (isohíbrido convencional) en ninguna de las comparaciones de la respuesta de las plantas a factores de estrés abiótico evaluadas (heladas y deficiencia nutricional). Durante la época de cultivo se presentaron daños por helada durante la segunda observación en la localidad LO y por deficiencia nutrimental durante la primera observación en la localidad MF, sin embargo no se observaron diferencias entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional en la respuesta a estos factores de estrés. Durante el desarrollo del cultivo en las tres localidades fueron evaluadas tres enfermedades seleccionadas previamente, incluyendo pudrición de mazorca, pudrición de tallo y *Puccinia sorghi*. El daño causado por roya común se evaluó durante el ciclo de cultivo y las pudriciones de tallo y mazorca se evaluaron previo a la cosecha, en las tres localidades. Se observaron síntomas notables para estas enfermedades, sin embargo no se observaron diferencias entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional para daño por enfermedades.
- La característica para protección frente a insectos en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 fue desarrollada para controlar las principales plagas de lepidópteros (*H. zea*, *D. saccharalis*, y *S. frugiperda*). Por lo tanto se esperaba que cuando la presión de plagas fuera suficiente como para ocasionar daño cuantificable, el MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 podría presentar menor daño por estas plagas comparado con el control convencional. En el análisis combinado de localidades MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presentó menor daño por *S. frugiperda* (0.06 vs. 3.37) y *H. zea* (0.12 vs. 1.03 de

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

calificación) que el control convencional. Además, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presentó significativamente un menor número de larvas de *Diatraea* spp. (0.00 vs. 0.03 larvas por 10 plantas) y longitud de galerías en tallo (0.06 vs. 0.43 cm) comparado con el control convencional. No se detectaron diferencias estadísticas entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional para número de orificios de entrada/salida de *Diatraea* spp. o número de galerías de tallo. No fue posible realizar una evaluación robusta de la característica de protección frente a insectos en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 *contra* *Diatraea* spp. debido a que solamente se observó daño menor por esta plaga en los diferentes tratamientos en las tres localidades. Aunque la característica de protección contra insectos en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 no fue desarrollada para el control de *Diabrotica* spp., se evaluó el daño por esta plaga. Se esperaba que MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 fuese similar al control convencional en daño por *Diabrotica* spp. En el análisis combinado de localidades para daño por *Diabrotica* spp., no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional para esta plaga no objetivo de la tecnología.

#### **Conclusión:**

Las características fenotípicas e interacciones ecológicas evaluadas en este estudio fueron utilizadas para caracterizar la planta y sus interacciones con el ambiente y para determinar el potencial de plaga de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 comparado con su control. Con base en las características analizadas, los resultados de este estudio demuestran que MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presenta un desarrollo similar a su control (isohíbrido convencional), ya que no se detectaron cambios en fenotipo o interacciones ecológicas que sugirieran un incremento en su potencial de plaga o maleza.

**Ver Anexo 2** “Equivalencia agronómica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010”

#### **VI. POSIBLES EFECTOS AL MEDIO AMBIENTE Y A LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA POR LA LIBERACIÓN DEL OGM, INCLUYENDO, EL PROTOCOLO UTILIZANDO PARA ESTABLECER ESTOS POSIBLES EFECTOS.**

##### **Definición del análisis de riesgo**

Evaluación de Riesgo Ambiental. El consenso internacional indica que la figura apropiada para efectuar un análisis de riesgo, dentro del proceso para otorgar permisos de liberación al ambiente de OGMs agrícolas, es la “evaluación de riesgo ambiental”.

Las razones que fundamentan lo anterior son:

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

1. Un sistema de producción agrícola presenta por su naturaleza un alto grado de incertidumbre.
2. La evaluación de riesgo ambiental es el concepto adecuado para los OGMs de uso agrícola ya que constituye una herramienta analítica multidisciplinaria que engloba a un conjunto de estudios científicos para estimar el riesgo potencial para el medio ambiente.
3. El proceso de evaluación de riesgo utiliza elementos de mitigación y manejo y considera la política pública (riesgo y beneficio).
4. En el caso de los OGMs, la meta de la evaluación de riesgo ambiental es identificar y evaluar los riesgos asociados a la liberación o el cultivo de esas plantas en comparación con su correspondiente historial de uso seguro. En estos casos ya se cuenta con una amplia base de estudios disponibles además de la familiaridad respecto del comportamiento de la planta en el medio ambiente, y el conocimiento sobre la biología de la misma.
5. La OECD, la ONU (FAO/OMS) y organizaciones científicas han permitido llegar a un acuerdo sobre los puntos que deben considerarse en una evaluación de riesgo ambiental de OGMs agrícolas. Estos elementos se utilizan uniformemente en los países que están adoptando esta tecnología.

Siguiendo el enfoque de “paso por paso” se ha solicitado la evaluación experimental del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 que presenta resistencia a insectos lepidópteros plaga y a herbicidas agrícolas de la Familia Faena que tienen como ingrediente activo al glifosato.

En la solicitud de liberación experimental se proporcionó la información que atiende a cada una de las consideraciones sobre los posibles riesgos del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6; a continuación se incluyen para cada punto los resultados que se obtuvieron en la evaluación realizada en nuestro país.

## **ESTABILIDAD GENÉTICA**

(Artículo 16, fracción III, inciso a, del RLBOGM)

En nuestra solicitud para evaluación experimental en campo proporcionamos los estudios sobre estabilidad genética de MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6 (Anexo 10); los resultados de dichos estudios demuestran la estabilidad de la información genética conferida a través de varias generaciones.

### Proceso de Introgresión de transgenes a Maíz

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

Los eventos biotecnológicos utilizados en el desarrollo de híbridos de maíz genéticamente modificados (GM) se presentan como gen dominante de herencia simple y se ajusta perfectamente a las leyes de Mendel, es decir segrega en una proporción 3:1

Las líneas parentales de un híbrido son seleccionadas para ser las portadoras del gen de interés que le confiere la característica de relevancia. Cada una de estas líneas (Progenitor Recurrente "PR") por separado, se cruzan previamente mediante polinización manual controlada con un Donador (D), que es el portador del transgen, para producir la generación F1; esta generación F1 tiene el 50% del genotipo del progenitor recurrente y 50% del genotipo del donador. Enseguida se siembra la F1 para cruzar nuevamente con el progenitor recurrente y producir la generación de retrocruza número 1 (BC1), la que ahora contiene 75% del genotipo del progenitor recurrente y 25% del genotipo del donador, esta acción de retrocruzar hacia el progenitor recurrente se hace en forma continua hasta alcanzar 5 retrocruzas, donde teóricamente (BC5) se alcanza la recuperación del progenitor recurrente en un porcentaje igual o mayor a 99%, mas el transgen en condición heterocigótica (BC5F1).

Una vez recuperada la línea (Progenitor Recurrente) en casi su totalidad, mediante el procedimiento de retrocruzas descrito arriba, viene el paso de fijar el transgen en condición homocigótica, para lo cual se realizan tres autofecundaciones manuales sucesivas, de tal manera que se propicie la segregación de individuos que contengan el transgen en condición homocigótica dominante para poder seleccionarlos y avanzar a la siguiente generación de autofecundación. Este proceso de autofecundar solo los individuos portadores del gen se hace durante tres ciclos de siembra, al final del cual se logra que todas las plantas de la línea parental convertida contengan el transgen de interés en condición homocigótica dominante (BC5F4). En este momento la línea está disponible para usarse en la producción comercial del híbrido con el transgen de interés.

En el estudio 2 "Efectividad biológica del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010" obtuvimos: i) la confirmación de la eficacia de la característica de tolerancia a glifosato en el MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6, y ii) la confirmación de la eficacia en el control de insectos lepidópteros plaga blanco de la tecnología cuando su presión fue lo suficiente para ocasionar daño cuantificable (control eficiente de gusano cogollero y gusano elotero por MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6). En el protocolo 4. "Verificación Cualitativa de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6" se confirmó la expresión de las proteínas que identifican a cada uno de los eventos que conforman el evento con genes apilados MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6.

#### **Conclusión:**

Los resultados obtenidos en la evaluación de los protocolos 2. "Efectividad biológica del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010" y 4. "Verificación Cualitativa de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6", confirman la estabilidad de la información

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

genética conferida a MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6, su expresión estable y fenotipo conferido.

Ver:

**Anexo 3** “Efectividad biológica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010”

**Anexo 4** Confirmación de la expresión de proteínas conferidas a los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 x MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 Y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo OI 2009-2010

## **EXPRESIÓN DEL MATERIAL INSERTADO**

(Artículo 16, fracción III, inciso b, del RLBOGM)

Para verificar la expresión del material insertado MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 se implementaron los protocolos 2. “Efectividad biológica del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010” y 4. “Verificación Cualitativa de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6”. Las proteínas que de manera específica identifican a los eventos MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6 fueron confirmadas mediante análisis con tiras reactivas de flujo lateral (protocolo 4) y se confirmó el fenotipo que confieren a MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6: tolerancia a glifosato y resistencia a insectos plaga (protocolo 2).

### **Conclusión:**

Se confirmó la presencia, expresión y fenotipo que confieren al MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 los eventos MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6.

Ver:

**Anexo 3** “Efectividad biológica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010”

**Anexo 4** Confirmación de la expresión de proteínas conferidas a los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 x MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 Y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo OI 2009-2010

## **CARACTERISTICA FENOTIPICA CONFERIDA AL MAÍZ MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

(Artículo 16, fracción III, inciso C, del RLBOGM)

El maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se obtuvo mediante cruzamiento convencional empleando como parentales materiales de maíz que contienen por separado cada uno de los

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

eventos MON-89Ø34-3 y MON-ØØ6Ø3-6. La expresión de las proteínas Cry1A.105 y Cry2Ab2 confieren la característica de resistencia a plagas de insectos lepidópteros y la expresión de la proteína CP4 EPSPS confiere tolerancia a herbicidas de la familia Faena.

En el estudio 2. “Efectividad biológica del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010” se analizó tanto la característica de tolerancia a glifosato como la resistencia a los principales insectos lepidópteros plaga que son blanco de las proteínas Cry expresadas. Los resultados del estudio confirman la eficacia de la característica de tolerancia a glifosato en el MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y la eficacia en el control de insectos plaga cuando atacan al cultivo (control efectivo de gusano cogollero).

#### **Conclusión:**

Los resultados del estudio confirman la eficacia de la característica de tolerancia a glifosato en el MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y la eficacia en el control de insectos plaga cuando su presión fuera suficiente como para ocasionar daño cuantificable (tal como fue el caso para gusano cogollero y gusano elotero en la presente evaluación).

**Ver Anexo 3** “Efectividad biológica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010”

#### **CARACTERIZACIÓN.**

*(Artículo 16, fracción III, inciso d, del RLBOGM)*

El MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 es tolerante a glifosato y resistente al ataque de insectos lepidópteros plaga (gusano cogollero [*Spodoptera frugiperda*], gusano elotero [*Helicoverpa zea*], barrenadores [*Diatraea saccharalis*, *D. grandiosella*]). Estas características fenotípicas son conferidas por la expresión de las siguientes proteínas:

Evento: **MON-89034-3 × MON-00603-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.



Figura 1. Secuencia deducida de aminoácidos de la proteína Cry1A.105.



Figura 2. Secuencia deducida de aminoácidos de la proteína Cry2Ab2.

Se elimina el secreto industrial por tratarse de información confidencial, de conformidad con el artículo 116 de la Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública y 113 fracciones II y último párrafo de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.



Figura 3. Secuencia deducida de la proteína CP4 EPSPS.

### **COMPARACIÓN CON MAÍCES CONVENCIONALES**

#### ***(Artículo 16, fracción III, inciso E, del RLBOGM)***

Adicional a la caracterización fenotípica realizada en el estudio “Evaluación Agronómica, Fenotípica e Interacciones Ecológicas del Maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010”, se tiene que no se observaron diferencias entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y su control (isohíbrido convencional) en ninguna de las comparaciones de la respuesta de las plantas a factores de estrés abiótico evaluadas (heladas y deficiencia nutricional). Durante la época de cultivo se presentaron daños por helada durante la segunda observación en la localidad LO y por deficiencia nutrimental durante la primera observación en la localidad MF, sin embargo no se observaron diferencias entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional en la respuesta a estos factores de estrés. Durante el desarrollo del cultivo en las tres localidades fueron evaluadas tres enfermedades seleccionadas previamente, incluyendo pudrición de mazorca, pudrición de tallo y *Puccinia sorghi*. El daño causado por roya común se evaluó durante el ciclo de cultivo y las pudriciones de tallo y mazorca se evaluaron previo a la cosecha, en las tres localidades. Se observaron síntomas notables para estas enfermedades, sin embargo no se observaron diferencias entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional para daño por enfermedades.

Se elimina el secreto industrial por tratarse de información confidencial, de conformidad con el artículo 116 de la Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública y 113 fracciones II y último párrafo de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública.

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

### **Conclusión:**

No se observaron diferencias significativas entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y su control (isohíbrido convencional) respecto de su respuesta a factores de estrés biótico y abiótico.

**Ver Anexo 2** “Equivalencia agronómica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010”

## **EFFECTOS SOBRE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA Y EL MEDIO AMBIENTE**

*(Artículo 16, fracción III, inciso F, del RLBOGM)*

Las plantas del maíz MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 son resistentes a: i) las principales plagas de insectos del orden Lepidoptera (barrenadores, gusano cogollero, gusano elotero) mediante la expresión simultánea de las proteínas de *Bacillus thuringiensis* (Bt) Cry1A.105 y la proteína Cry2Ab2 modificada, y ii) tolerantes a la acción de los herbicidas agrícolas de la familia Faena por expresión la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa de *Agrobacterium* CP4.

### **Organismos No Blanco**

#### *Daño por artrópodos*

La característica para protección frente a insectos en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 fue desarrollada para controlar las principales plagas de lepidópteros (*H. zea*, *D. saccharalis*, y *S. frugiperda*). Por lo tanto se esperaba que cuando la presión de plagas fuera suficiente como para ocasionar daño cuantificable, el MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 podría presentar menor daño por estas plagas comparado con el control convencional. En el análisis combinado de localidades MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presentó menor daño por *S. frugiperda* (0.06 vs. 3.37) y *H. zea* (0.12 vs. 1.03 de calificación) que el control convencional. Además, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presentó significativamente un menor número de larvas de *Diatraea* spp. (0.00 vs. 0.03 larvas por 10 plantas) y longitud de galerías en tallo (0.06 vs. 0.43 cm) comparado con el control convencional. No se detectaron diferencias estadísticas entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional para número de orificios de entrada/salida de *Diatraea* spp. o número de galerías de tallo. No fue posible realizar una evaluación robusta de la característica de protección frente a insectos en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 *contra* *Diatraea* spp. debido a que solamente se observó daño menor por esta plaga en los diferentes tratamientos en las tres localidades. Aunque la característica de protección contra insectos en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 no fue desarrollada para el control de *Diabrotica* spp., se evaluó el daño por esta plaga. Se esperaba que MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 fuese similar al control convencional en daño por *Diabrotica* spp. En el análisis combinado de localidades para daño por *Diabrotica* spp., no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional para esta plaga no objetivo de la tecnología.

#### *Abundancia de artrópodos*

En el análisis combinado de localidades para abundancia de artrópodos en nueve muestreos con trampas pegajosas a lo largo de todas las localidades no se detectaron diferencias estadísticas entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional para 31 de 34 comparaciones incluyendo Anthicidae, *Chaetocnema* spp., *Chrysoperla* spp., Coccinellidae, *Collops* spp. *Diabrotica* (adultos), *Geocoris* spp., *Orius* (adultos), *Orius* (ninfas) y avispa parasítica. Además, no se observaron diferencias numéricas en 36 comparaciones adicionales para las cuales no se pudieron establecer los valores de *p* debido a la falta de variabilidad en los datos. Las tres diferencias estadísticamente significativas detectadas fueron para abundancia de *Chaetocnema* spp., Coccinellidae, y *Geocoris* spp. MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presentó menor abundancia que el control convencional para *Chaetocnema* spp. en la octava colecta (0.00 vs. 0.17 por parcela), Coccinellidae en la tercera colecta (1.83 vs. 3.08 por parcela) y *Geocoris* spp. en la cuarta colecta (0.00 vs. 0.08 por parcela). El valor de la media para abundancia de *Chaetocnema* spp. y *Geocoris* spp. de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se ubicó dentro del rango de referencia de los híbridos comerciales, mientras que el valor de la media para abundancia de Coccinellidae de MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 fue ligeramente menor (2.00 – 3.83 por parcela) que el rango de referencia de híbridos comerciales. Sin embargo las diferencias detectadas para abundancia de *Chaetocnema* spp., Coccinellidae y *Geocoris* spp. fueron pequeñas en magnitud y no fueron constantes en las otras colectas donde se cuenta con datos.

De esta manera, los resultados apoyan la conclusión de que las diferencias detectadas en abundancia de artrópodos no son indicativas de una respuesta constante asociada con la característica biotecnológica y no son consideradas biológicamente significativas en término de un incremento en el potencial de plaga o en una modificación en el impacto al ambiente del MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 comparado con el maíz convencional.

En el análisis combinado de localidades de la abundancia de artrópodos mediante tres conteos visuales realizados en cada localidad, no se detectaron diferencias estadísticas entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional en 12 de 14 comparaciones incluyendo *Chrysoperla* spp., Coccinellidae, *Geocoris* spp., chicharritas, *Nabis* spp., y *Orius* spp. Además, no se observaron diferencias numéricas en 4 comparaciones adicionales para las cuales no se pudo determinar el valor de *p* debido a la falta de variabilidad en los datos. Se detectaron dos diferencias estadísticamente significativas donde MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presentó menor abundancia de chicharritas (6.92 vs. 9.33 por parcela) y menor abundancia de *Nabis* spp. (0.00 vs. 0.08 por parcela) comparado con el control durante la primera y segunda observación, respectivamente. El valor de la media para abundancia de chicharritas en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se ubicó fuera del rango de referencia (7.50-9.42) pero dentro del rango de lo

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

que se podría esperarse para híbridos de maíz convencional. La media para abundancia de *Nabis* spp. en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se ubicó dentro del rango de referencia de híbridos de maíz convencional comerciales. De este modo, la diferencia en abundancia de chicharritas y *Nabis* spp. no es considerada biológicamente significativa en término de un incremento en el potencial de plaga o en una modificación en el impacto al ambiente del MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 comparado con el control de maíz convencional.

En el análisis combinado de localidades para abundancia de artrópodos a partir de nueve colectas con trampas de caída en las tres localidades, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el control convencional para 39 de 42 comparaciones incluyendo Collembola, grillos (Gryllidae), Dermaptera, Carabidae grandes, Carabidae pequeños, arañas, estafilínidos adultos y larvas de estafilínidos (Tabla 24). Además, no se observaron diferencias numéricas en 14 comparaciones adicionales para las cuales no se pudieron generar los valores de p debido a la falta de variabilidad de los datos. Las tres diferencias estadísticamente significativas fueron para abundancia de grillos Dermaptera y Carabidae grandes. MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 presentó mayor abundancia que el control convencional para grillos en la novena colecta (0.17 vs. 0.00 por parcela) y Dermaptera en la cuarta colecta (1.00 vs. 0.25 por parcela), y menor abundancia que el control convencional para Carabidae grandes en la octava colecta (0.17 vs. 1.25 por parcela). Sin embargo los valores de las medias para abundancia de grillos, Dermaptera y Carabidae grandes en MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se ubicaron dentro del rango de referencia de híbridos comerciales. Además, las diferencias detectadas para abundancia de grillos Dermaptera y Carabidae grandes fueron pequeñas en magnitud y no fueron consistentes en las colectas donde se tuvieron datos disponibles.

Por esto, los resultados apoyan la conclusión de que la diferencia detectada en abundancia de artrópodos no es indicativa de una respuesta consistente de la planta asociada con la característica biotecnológica y no es considerada biológicamente significativa en término de un incremento en el potencial de plaga o en una modificación en el impacto al ambiente del MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 comparado con el control de maíz convencional.

### **Conclusiones:**

Los resultados de las evaluaciones de campo mostraron que las características de tolerancia a glifosato y protección a insectos plaga no alteran de manera inesperada las interacciones ecológicas analizadas del MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 comparado con el control convencional. La carencia de diferencias biológicamente significativas en la respuesta de la planta a condiciones de estrés abiótico, daño por enfermedades, daño por artrópodos y abundancia de artrópodos, apoyan la conclusión de que la introducción de las características de tolerancia a glifosato y resistencia a insectos sea improbable que resulte en un incremento del potencial de plaga o en una modificación en el impacto al ambiente del MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 comparado con el control de maíz convencional.

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

**Ver Anexo 2** “Equivalencia agronómica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010”

## **MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN EVENTO ESPECÍFICO**

***(Artículo 16, fracción III, inciso G, del RLBOGM)***

Se proporciona la siguiente información, incluida en nuestra solicitud de liberación experimental:

1. A Recommended Procedure for Real-Time Quantitative TaqMan® PCR for MON 89034
2. A Recommended Procedure for Real-Time Quantitative TaqMan® PCR for MON 00603
3. A Recommended Procedure for PEG Precipitation of Genomic Plant DNA
4. A Recommended Procedure for DNA Extraction from Plant Tissues

**Ver Anexo 11.**

## **POTENCIAL DE FLUJO GENICO**

***(Artículo 16, fracción III, inciso H, del RLBOGM)***

Los terrenos experimentales estuvieron aislados de otros maíces con una distancia de por lo menos 600 m (en un radio de 500 m alrededor del predio experimental no se encontraban presentes otros maíces y en el perímetro entre 500 y 600 m, de encontrarse presentes, tenían un desfase en fecha de floración de 30 días).

En el estudio 3. “Evaluación de morfología y viabilidad del polen del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6” se determinó la morfología y viabilidad del polen del maíz MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6 comparado a su control convencional; en el estudio 5. “Evaluación de la dispersión de polen desde los predios experimentales con maíz GM establecidos en Sonora, ciclo O.I 2009” se analizó la dispersión del polen de las plantas de maíz en el lote experimental de acuerdo a los vientos de la zona; y en el estudio 1. “Evaluación Agronómica, Fenotípica e Interacciones Ecológicas del Maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora Durante 2009-2010 se analizó si la modificación genética alteraba las características e interacciones ecológicas del maíz MON-89Ø34-3 x MON-ØØ6Ø3-6.

Los resultados de los protocolos 3, 5 y 1 indican, respectivamente, que: i) no se presentan diferencias en viabilidad ni morfología entre el polen del maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y el polen de su control (isohíbrido convencional); ii) la dispersión del polen está directamente

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

asociada con la dirección dominante de los vientos; y iii) las características biotecnológicas conferidas a MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 no modifican sus características fenotípicas ni sus interacciones ecológicas, por lo cual no se incrementa su potencial de maleza o plaga.

### **Conclusión:**

Por todo lo anterior se tiene que de presentarse flujo de genes a maíz convencional mediado por polen, mecanismo reproductivo natural de esta especie, no se esperaría *a priori* un impacto negativo sobre el producto a obtener.

Ver:

**Anexo 2** “Equivalencia agronómica de los maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo Otoño - Invierno 2009-2010”

**Anexo 5** “Trampas periféricas del polen de maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo OI 2009-2010”

**Anexo 6** “Evaluación de morfología y viabilidad del polen de maíces biotecnológicos MON-89Ø34-3 × MON-88Ø17-3, MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 Y MON-ØØ6Ø3-6 en el Estado de Sonora durante el ciclo OI 2009-2010”

## **VII. EFECTOS DE LAS PRÁCTICAS DE USO Y APROVECHAMIENTO.**

La regulación aplicable a OGMs de uso agrícola señala tres fases o etapas: liberación experimental, liberación en programa piloto y liberación comercial.

En la liberación experimental realizada se confirmó para MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6:

- a. que las características biotecnológicas conferidas (tolerancia a glifosato y resistencia a insectos plaga) no incrementan su potencial de maleza o plaga respecto a su control (isohíbrido convencional).
- b. su resistencia a plagas objetivo de insectos lepidópteros cuando su presión fue suficiente como para ocasionar daño cuantificable (gusano cogollero y gusano elotero).
- c. su tolerancia a aplicaciones totales del herbicida agrícola Faena cuyo ingrediente activo es glifosato.
- d. su equivalencia con MON-ØØ6Ø3-6 respecto a su tolerancia a aplicaciones totales del herbicida agrícola Faena cuyo ingrediente activo es glifosato.
- e. la eficacia en el control de maleza cuando es utilizado en conjunto con aspersiones de glifosato sobre el cultivo.

En relación al control de insectos plaga se tiene que si bien los experimentos se establecieron al final del ciclo de cultivo cuando la temperatura disminuye sustancialmente, para el control de

Evento: **MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6**

Número de Folio: **0015\_2009**

Permiso: **B00.04.03.02.01.-8698**

Fecha: **19 de julio de 2010**

INFORMACION CONFIDENCIAL PROPIEDAD DE MONSANTO COMERCIAL S. A. DE C. V.

gusano cogollero en los materiales convencionales y el biotecnológico que no tiene protección frente al ataque de insectos (MON-ØØ6Ø3-6) se tuvieron que realizar dos aplicaciones del insecticida Lorsban 480 E (Clorpirifos) a dosis de 1.5 litros por hectárea en las localidades LO y MG y una aplicación en el sitio MF; en MON-89Ø34-3 × MONØØ6Ø3-6 no se requirió de ninguna aplicación de insecticida.

### **VIII. EN SU CASO, REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.**

(Artículo 16, fracción III, inciso I, del RLBOGM)

Graham Brookes and Peter Barfoot, 2010, Global Impact of Biotech Crops: Environmental Effects, 1996-2008, *AgBioForum*, 13(1): 76-94.

### **Conclusiones generales:**

Por todo lo anterior tenemos que los resultados de las evaluaciones realizadas en Sonora al maíz con genes apilados MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 se encuentran en línea con los resultados obtenidos en diversos países donde se ha evaluado la tecnología y hoy se comercializa brindando importantes beneficios para el productor y el ambiente.

Las evaluaciones indican que los riesgos presentados por el maíz MON 89034 x MON-ØØ6Ø3-6 no son mayores a aquellos que presentan los híbridos convencionales de maíz. Los estudios realizados en nuestro país confirman que las características conferidas al maíz MON 89034 x MON-ØØ6Ø3-6 permiten el control eficiente de importantes insectos plaga cuando su presión fue suficiente como para ocasionar daño cuantificable (gusano cogollero y gusano elotero) que son blanco de esta tecnología, al tiempo que no afectan a poblaciones de insectos no blanco y que la tolerancia a herbicidas agrícolas de la Familia Faena que confiere MON 89034 x MON-ØØ6Ø3-6 se expresa en híbridos con germoplasma adaptado a la región, y que la aspersion del herbicida sobre el cultivo biotecnológico es un método eficaz en el control de maleza anual y perenne. Dichas características son reflejo de la estabilidad de los transgenes que incorpora el maíz MON-89Ø34-3 × MON-ØØ6Ø3-6 y la expresión estable de las proteínas que codifican.